

微生物菌剂对青贮玉米生长及根际真菌群落结构的影响

杨 硕¹, 王玉丽², 郑百芹¹, 李金璐¹, 周 禹¹, 裴小亮¹,
吴江爱¹, 杜瑞焕¹, 曹慧慧¹

(1. 唐山市食品药品综合检验检测中心/河北省农产品质量安全检测技术创新中心/唐山市功能性农产品产业
技术研究院, 河北 唐山 063000; 2. 唐山市农业科学研究院, 河北 唐山 063000)

摘 要: 以青贮玉米为试材, 分析施用微生物菌剂对青贮玉米生物学性状及不同生育期内根际土壤真菌群落结构的影响。基因测序共得到 1 104 318 条有效序列、1 146 个 OTUs, 注释到 12 门、40 纲、94 目、203 科、396 属、541 种, 结合 Alpha 多样性和菌属聚类分析, 各组样品间真菌群落结构差异性显著, 试验组物种多样性指数降低, 但有益菌属的相对丰度增加, 毛壳菌属(*Chaetomium*)是试验组的绝对优势菌属。结果表明, 微生物菌剂处理提高了青贮玉米的生物产量和营养品质, 优化了根际土壤真菌群落结构。

关键词: 玉米; 微生物菌剂; 真菌群落结构; 生物产量; 营养品质

中图分类号: S435.131

文献标识码: A

Effects of Microbial Agents on the Growth and Rhizosphere Fungal Community Structure of Silage Maize

YANG Shuo¹, WANG Yu-li², ZHENG Bai-qin¹, LI Jin-lu¹, ZHOU Yu¹, PEI Xiao-liang¹,
WU Jiang-ai¹, DU Rui-huan¹, CAO Hui-hui¹

(1. Tangshan Food and Drug Comprehensive Testing Center / Hebei Agricultural Products Quality and Safety Testing Innovation Center / Tangshan Institute of Industrial Technology for Functional Agricultural Products, Tangshan 063000; 2. Tangshan Academy of Agricultural Sciences, Tangshan 063000, China)

Abstract: Silage maize was used as a test material to analyze the effects of microbial agents on the biological traits and the fungal community structure of rhizosphere soil at different growth periods. A total of 1 104 318 effective sequences and 1 146 OTUs were obtained by gene sequencing, which were annotated to 12 phyla, 40 classes, 94 orders, 203 families, 396 genera and 541 species. Combined with the alpha diversity and bacterial cluster analysis, the fungal community structure of each group was significantly different. The species diversity index of the experimental group decreased, but the relative abundance of beneficial bacteria increased. *Chaetomium* was the absolute dominant genus in the experimental group. The results showed that microbial inoculant treatment improved the biological yield and nutritional quality of silage maize, and optimized the fungal community structure of rhizosphere soil.

Key words: Maize; Microbial agent; Fungal community structure; Biological yield; Nutritional quality

录用日期: 2024-03-28

基金项目: 河北省人才工程资助项目(C20231087)、唐山市人才项目(A202110026)、唐山市科技计划项目(23150210A)、高产优质粮饲通用型青贮玉米新品种选育与种质资源创新项目(22150214A)

作者简介: 杨 硕(1986-), 男, 河北唐山人, 高级工程师, 硕士, 研究方向为植物分子生物学。Tel: 18631511918

E-mail: yangshuo568@126.com

曹慧慧和杜瑞焕为本文通信作者。

E-mail: caohuihui0526@126.com

E-mail: 305496855@qq.com

青贮玉米是一种干物质质量适当、高能量、高蛋白、高摄入量、脂肪和纤维丰富的优质粗饲料^[1-2], 已成为反刍类动物日粮主要成分^[3-4], 具有易贮存、产量高等优点。青贮玉米的生物产量和营养品质受根际微生物菌群结构等因素影响^[5-6], 根际微生物主要是存在于玉米根系周围土壤中的细菌、真菌、古菌和放线菌等物种^[7], 其菌群结构和物种丰度对于种植环境的生态平衡^[8]、土壤性质^[9]和养分循环^[10]均起到关键作用。在不同生长发育阶段, 玉米植株和根际

微生物群落的交互作用可分为有益、共生和致病三种模式,平衡合理的菌群结构关系到植株对种植环境的响应、营养元素的吸收和病害的抑制^[11-12],所以根际土壤微生物群落通常被认为是植物基因组的直接表征因子^[13],对玉米的外在性状和内在营养品质至关重要。

目前,利用有益微生物菌剂调控土壤菌群结构,通过优化微生物代谢方式改善土壤环境,规避有害污染因子向作物植株传导,成为促进农业发展的有效手段^[14]。荧光假单胞杆菌是一种环保型生防菌,在提高作物发芽率、出苗率^[15]、产量^[16]、营养品质^[17]和防治病害^[18]等方面优势明显。本研究以青贮玉米为试材,通过荧光假单胞杆菌菌剂拌种处理,分析其对青贮玉米生物学性状及根际土壤真菌群落结构的影响,在合理利用真菌产生的次级代谢产物的基础上^[19-20],论证其在防治植物病害和促进植物生长的正向调控作用,为改善青贮玉米种植栽培方法提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试微生物菌剂:采用具有广谱抑菌作用的荧光假单胞杆菌(*Pseudomonas fluorescens*)F1^[21](菌株保藏号:CGMCC NO.8820),经菌种提纯发酵工艺加工而成生防类微生物菌剂,由秦皇岛领先康地农业技术有限公司提供。

供试玉米材料沃玉3号(审定编号:国审玉20210620),由河北省草业创新团队唐山综合试验推广站提供。

1.2 试验设计

菌剂拌种处理:菌剂浓度大于 5×10^8 cfu/mL(有效活菌数量),玉米种子拌种用菌剂量为75 mL/kg。菌液均匀喷洒于种子表面,充分搅拌混合,待种子表面阴干后备用。

田间试验设计:设置菌剂拌种处理的试验组和未拌种处理的对照组两个处理组。大田试验采用裂区设计,各处理组小区播种面积340 m²,玉米等行种植,单株留苗,播种密度为 7.40×10^4 株/hm²,行间距60 cm,株间距25 cm。玉米栽培肥水管理同田间生产。

1.3 样本采集与处理

根际土壤样本采集:各处理组分别于玉米生育期内的苗期(A)、拔节期(B)和成熟期(C)采集样本,采样器具需严格高压灭菌处理。每个处理试验小区等量选取3个点,采用蛇形取样法,各点随机选取6株

玉米植株,应用“抖土法”收集地下0~20 cm作物根际土壤^[22],将3个点的土样混匀为1个处理样本,装入50 mL收集管,干冰保温带回实验室,每个处理设3次生物学重复(土壤样品编号1、2、3)。处理样本过无菌筛(孔径2 mm),并冻存于-80℃冰箱,将土壤冻样用于DNA提取及真菌ITS高通量测序、分析。

植株样本采集:乳熟后期在各处理试验小区,去除边行效应,随机取3个样本点(6 m²),各样本点内连续选取6株玉米进行农艺性状测量,留茬15 cm收获样本点全部植株,用于分析试验组、对照组处理的生物产量和营养成分等指标。

1.4 测定项目与方法

1.4.1 生物产量

收获前,分别对不同处理的青贮玉米样本株进行农艺性状测量:株高(全样本植株高度)、茎粗(基部第2节直径)和穗位高(基部至玉米穗底端高度)。留茬15 cm收割,称量6 m²植株总重(kg),并计算产量(kg/hm²)。

1.4.2 营养成分

从每个样本点中随机选取10株玉米,全株粉碎,充分混匀取小样100 g,经旋风磨研磨、过筛(1 mm),利用福斯FOSS-2500多功能近红外分析仪,以美国国家牧草检测中心的苜蓿近红外检测模型为数据分析基础,应用近红外光谱分析技术(NIRS)分析试验组和对照组处理的干物质、粗蛋白、脂肪、淀粉、酸性洗涤纤维、中性洗涤纤维等营养指标及钙、磷、钾、镁等矿物质元素指标,每个处理设3次生物学重复。

1.4.3 样本DNA提取、PCR扩增及Illumina Miseq测序

选取1.3根际土壤冻样0.5 g,应用土壤微生物DNA提取试剂盒E.Z.N.A. Stool DNA Kit进行青贮玉米根际土壤总DNA的快速抽提,分别应用NanoDrop分光光度计和1%琼脂糖凝胶电泳检测基因组DNA的浓度和质量。真菌测序选取ITS区,以ITS1F(5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')、ITS2R(5'-GCTCGCTTCTTCATCGATGC-3')分别为正、反向特异性引物,进行PCR扩增。使用Agencourt AMPure XP磁珠对PCR扩增产物进行纯化,并溶于洗脱缓冲液(Elution Buffer)。Illumina Miseq平台对文库进行双末端高通量测序(华大基因公司,深圳),用于生物信息学分析^[23]。

1.5 数据处理与分析

对原始测序数据序列进行Reads质控、过滤、拼接,得到高变区的有效序列(Tags)^[24]。按照UPARSE

97%的序列相似度,将 Tags 聚类为操作分类单位(OTU)^[25]。应用 Denovo 方法去除 OTU 代表序列中的嵌合体,应用 RDP classifier 贝叶斯算法将 OUT 代表序列与 Greengene 数据库比对,进行物种注释^[26-27],在门、纲、目、科、属、种水平统计各样本的群落组成,进行样本真菌的物种分布和 Alpha 多样性分析。采用 R Studio 软件中绘制 Venn 图、OTU Core-Pan 图、物种丰度柱状图和 Alpha 多样性稀释曲线,分析青贮玉米根际土壤样本真菌物种复杂度及组间物种差异。采用 Excel 365 软件进行数据统计与计算,应用 SPSS 19.0 软件对数据进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 青贮玉米生物学性状分析

2.1.1 植株生物产量

由表 1 数据可知,试验组处理的茎粗、穗位高和产量均比对照组处理高。统计分析显示,不同处理

间差异性显著($P<0.05$),表明荧光假单孢杆菌菌剂拌种处理对青贮玉米植株发育和产量有明显的促进作用。

2.1.2 植株营养品质

由表 2 青贮玉米的营养成分分析结果可知,微生物菌剂拌种处理对青贮玉米的干物质($P<0.05$)、脂肪($P<0.05$)、淀粉($P<0.05$)、酸性洗涤纤维($P<0.05$)和中性洗涤纤维($P<0.05$)影响显著。计算相对饲喂价值,可得试验组处理的营养物质含量和饲喂价值均高于对照组处理,表明荧光假单孢杆菌可有效分解土壤中的养分、刺激作物生长、促进营养吸收。

由青贮玉米的矿物质元素含量对照结果可知(表 3),不同处理组间青贮玉米矿物质元素含量差异均不显著($P>0.05$)。乳熟后期,试验组处理的钙、磷、钾、镁元素积累量略高于对照组处理,说明菌剂拌种处理可改善土壤和肥料的利用率。

表 1 青贮玉米样品生物产量对照结果

Table 1 Comparison results of biological yield of silage maize samples

处 理	株高(cm)	茎粗(mm)	穗位高(cm)	产量(kg/hm ²)
Treatment	Plant height	Stem diameter	Ear height	Yield
试验组	292.8±4.6 a	26.3±0.4 a	106.9±3.5 a	76 759.87±1 883.34 a
对照组	291.2±8.1 a	24.0±0.7 b	102.3±4.6 b	72 105.67±1 592.45 b

注:同列不同小写字母表示相同指标不同处理间差异显著($P<0.05$)。下表同。

Note: Different lowercase letters in the same column indicated significant differences between different treatments for the same index($P<0.05$). The same below.

表 2 青贮玉米营养成分对照结果

Table 2 Nutrient content control results of silage maize

%

处 理	干物质	粗蛋白	脂 肪	淀 粉	酸性洗涤纤维	中性洗涤纤维
Treatment	Dry matter	Crude protein	Fat	Starch	ADF	NDF
试验组	28.75±2.33 a	8.47±0.17 a	2.98±0.07 a	28.90±0.97 a	21.7±0.07 a	40.3±0.28 a
对照组	27.90±0.81 b	8.40±0.26 a	2.73±0.14 b	23.75±1.56 b	27.6±1.13 b	43.1±4.16 b

表 3 青贮玉米矿物质元素对照结果

Table 3 Comparison results of mineral elements in silage maize

%

处 理	钙	磷	钾	镁
Treatment	Ca	P	K	Mg
试验组	0.19±0.01	0.24±0.02	1.38±0.04	0.14±0.02
对照组	0.17±0.02	0.23±0.01	1.26±0.01	0.12±0.02

2.2 根际土壤真菌群落结构特征分析

2.2.1 根际土壤真菌物种多样性分析

利用不同处理条件下苗期、拔节期和成熟期的土壤样本测序量(表 4)在不同测序深度时的微生物

Shannon 指数,构建 Alpha 多样性稀释曲线。由图 1 可知,Shannon 指数曲线延伸终点趋向平坦,说明样本测序量足以覆盖所有真菌类群,可以反映样品中绝大多数的微生物物种信息。样本 RANK 曲线较

宽,延伸处趋于平坦,说明样品中物种组成丰富、均匀度高。

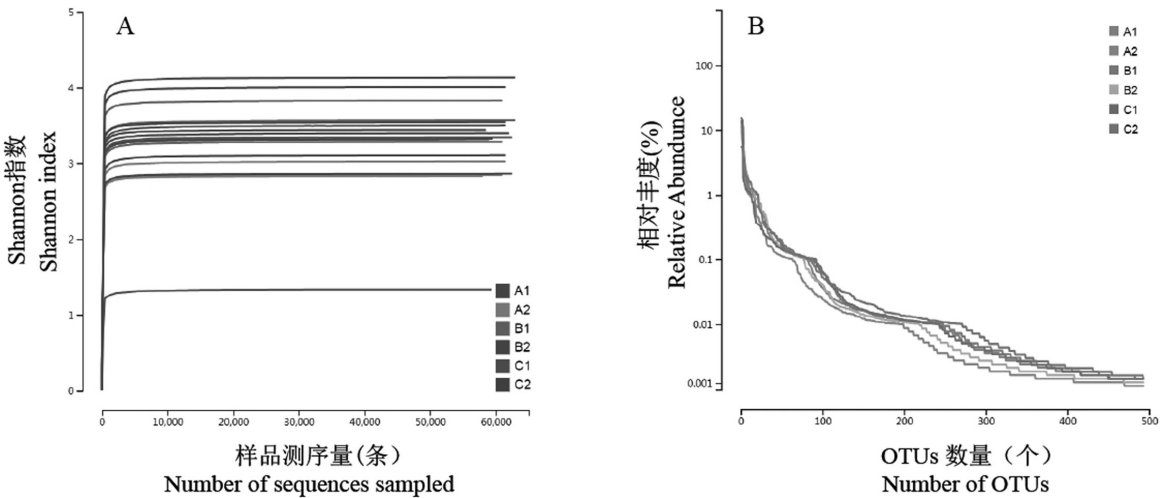
为衡量不同处理条件下青贮玉米根际土壤真菌物种的丰度和多样性,对土壤真菌的 Alpha 多样性指数进行分析。由表 5 可知,A1、B1、C1 和 A2、B2、C2 的覆盖率指数均在 99.8% 以上,表明本次测序结果数据近似饱和,取样深度合理,能够真实反映不同

时期根际土壤真菌群落。

在物种丰度方面,不同生长时期对比分析,试验组和对照组根际土壤真菌的 Sobs、Chao 和 Ace 指数均先增加后减少的变化趋势,拔节期土壤真菌的丰度指数最高。不同处理对比分析,苗期和拔节期试验组土壤真菌的 Sobs、Chao 和 Ace 指数均显著高于对照组($P<0.05$);成熟期试验组土壤真菌的 Ace 指数

表 4 3 次生物学重复土壤样品真菌测序结果
Table 4 Fungal sequencing results of soil samples in 3 biological replicates

组 别	土壤样品编号	原始序列数(条)	优化序列数(条)	有效序列数(条)	数据利用率(%)	数据长度(bp)
Group	Sample ID	Raw reads	Clean tags	Effective tags	Data utilization	Avglen
苗期试验组(A1)	1	70 037	68 211	59 827	97.29	310
	2	69 851	68 492	61 658	97.90	305
	3	70 128	68 645	59 338	97.72	310
苗期对照组(A2)	1	70 383	68 933	61 538	97.51	309
	2	69 270	67 871	61 154	97.84	307
	3	69 409	67 892	58 390	97.83	311
拔节期试验组(B1)	1	68 970	67 629	63 157	97.58	312
	2	70 984	68 282	61 093	97.83	313
	3	69 600	68 216	61 424	97.90	309
拔节期对照组(B2)	1	70 875	67 752	58 813	94.84	330
	2	69 981	68 523	62 048	97.76	311
	3	79 690	69 617	61 769	86.13	309
成熟期试验组(C1)	1	69 978	68 652	61 970	97.96	306
	2	71 181	69 139	62 614	96.52	312
	3	70 653	69 148	61 841	97.47	314
成熟期对照组(C2)	1	72 033	69 410	62 615	95.76	321
	2	70 106	68 403	61 716	97.12	312
	3	70 042	68 535	63 353	97.39	316



注:A 表示 Alpha 多样性稀释曲线;B 表示 RANK 曲线。
Note: A represents the alpha diversity rarefaction curve; B represents the rank curve.

图 1 不同时期、不同处理青贮玉米根际土壤真菌多样性
Fig.1 Fungal diversity in rhizosphere soil of silage maize at different stages and treatments

表5 青贮玉米根际土壤真菌群落丰度和多样性指数
Table 5 Fungal community richness and diversity index of silage maize rhizosphere soil

组 别 Group	丰度指数 Abundance index			多样性指数 Diversity index		覆盖率指数 Coverage index
	Sobs 指数 Sobs index	Chao 指数 Chao index	Ace 指数 Ace index	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	Coverage 指数 Coverage index
	Sobs index	Chao index	Ace index	Shannon index	Simpson index	Coverage index
苗期试验组(A1)	422.67±28.13 a	521.29±38.02 a	500.47±38.889 a	3.248±0.121 a	0.117±0.041 a	0.998 5±0.000 2 a
苗期试验组(A2)	377.67±39.80 b	469.47±42.04 b	471.62±31.459 b	2.900±0.107 b	0.145±0.029 b	0.998 4±0.000 1 a
拔节期试验组(B1)	463.33±25.70 c	537.09±34.07 c	538.26±33.684 c	3.561±0.272 c	0.086±0.049 c	0.998 5±0.000 1 a
拔节期试验组(B2)	429.00±49.57 d	530.63±77.07 d	528.64±69.525 d	3.460±0.077 c	0.078±0.009 c	0.998 3±0.000 3 a
成熟期试验组(C1)	414.67±54.86 e	469.06±35.56 b	478.39±34.328 e	2.725±1.207 d	0.283±0.251 d	0.998 7±0.000 3 a
成熟期试验组(C2)	416.33±61.01 e	468.70±45.35 b	462.37±43.841 f	3.667±0.700 e	0.064±0.048 e	0.998 9±0.000 2 a

高于对照组($P<0.05$), Sobs 和 Chao 指数无显著差异($P>0.05$)。说明在青贮玉米生长周期中, 拔节期根际土壤真菌群落丰度最高, 微生物菌剂拌种处理增加了土壤真菌的物种丰度。

在物种多样性方面, 不同生长时期对比分析, 拔节期试验组处理和成熟期对照组处理土壤真菌的 Shannon 指数最高, Simpson 指数最低。不同处理对比分析, A1 处理土壤真菌的 Shannon 指数显著高于 A2 处理($P<0.05$), C1 处理土壤真菌的 Simpson 指数显著高于 C2 处理($P<0.05$), B1、B2 处理土壤真菌的 Shannon 和 Simpson 指数无显著差异($P>0.05$)。说明菌剂拌种处理降低了土壤真菌的物种多样性指数, B1 处理和 C2 处理根际土壤真菌物种的差异性最高。综合生物学性状分析结果, 可以初步推断, 荧光

假单孢杆菌菌剂拌种处理, 影响了青贮玉米根际土壤的微生物群落结构, 有益微生物菌属的种类和丰度增加, 确定拔节期是微生物群落结构改变的分化期。

通过真菌内转录间隔区基因测序, 获得原始序列 1 273 171 条, 拼接 Tags 得到 1 104 318 条, 将相似度 97% 以上的 tags 序列聚类为一个 OTU 单元, 18 个青贮玉米根际土壤样本共得到 1 146 个 OTUs。用 Venn 图表征相同处理条件、不同时期根际土壤中真菌数量的变化, 试验组处理共有 1 011 个 OUTs, 对照组处理共有 967 个 OTUs。在苗期、拔节期和成熟期内, 各处理组的真菌特有 OTUs 数量均明显低于各时期共有 OTUs 数量, 说明在不同生长时期、相同处理条件下根际土壤中真菌物种的差异性较小。

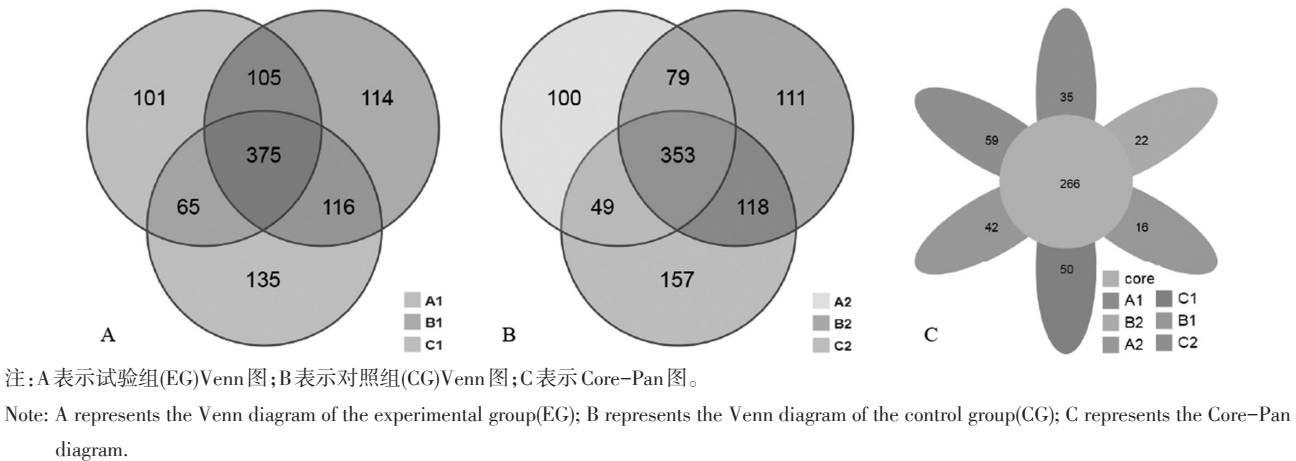


图2 青贮玉米根际土壤样品间真菌 OTU 分布
Fig.2 Distribution of fungal OTU among silage maize rhizosphere soil samples

以 OTU Core-Pan 图表征不同处理、不同时期土壤真菌物种的特异性。18 个样本中共同含有 OTUs 266 个, 占比 23.21%, 试验组处理苗期、拔节

期、成熟期特有 35、42、50 个 OTUs, 对照组处理苗期、拔节期和成熟期特有 16、22、59 个 OTUs。说明不同处理的土壤样本间真菌物种存在差异, 各样品

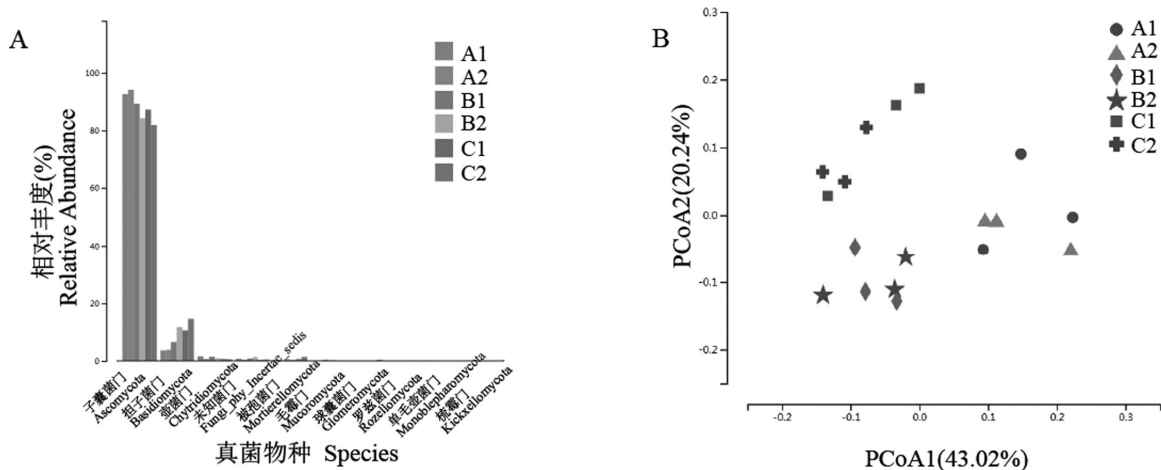
间真菌物种的特异性 C2>C1>B1>A1>B2>A2, 苗期和拔节期微生物菌剂拌种处理均增加了根际土壤中特有真菌的数量,C1处理的特有真菌数量下降。

2.2.2 根际土壤真菌群落结构与差异性分析

18个根际土壤样本中的OTUs共注释到12门、40纲、94目、203科。基于菌门聚类分析(图3),两种处理模式中,真菌物种相对丰度TOP10的菌门占比均达98.6%以上,未分类门相对丰度最低(0.39%~1.31%),说明根际土壤样本中主要为已知真菌物种,涵盖子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、壶菌门(Chytridiomycota)、被孢霉门(Mortierellomycota)、毛霉门(Mucoromycota)、球囊菌门(Glomeromycota)、罗兹菌门(Rozellomycota)、单毛壶菌门(Monoblepharomycota)、梳霉门(Kickxellomycota)。从门分类水平分析,不同生长时期试验组与对照组处理的优势菌门均为子囊菌门和担子菌门。荧光假单孢杆菌株处理,未明显改变青贮玉米根际土壤门属水平微生物群落组成,不同处理、不同时期优势菌门

的相对丰度差异显著。子囊菌门在不同处理组中的占比分别为92.75%(A1)、94.26%(A2)、89.12%(B1)、84.19%(B2)、87.13%(C1)、81.84%(C2),对照组处理的子囊菌门相对丰度较试验组处理显著降低,其中拔节期降幅最大;担子菌门在不同处理组中的占比分别为3.56%(A1)、3.80%(A2)、6.43%(B1)、11.93%(B2)、10.79%(C1)、14.76%(C2),对照组处理的担子菌门相对丰度较试验组处理显著增加,其中拔节期增幅最大。

PCoA分析表明,两种处理模式中,真菌群落的3个生物学重复样本间呈各自分离的状态,处理模式之间有显著分化。基于方差贡献分析法表达不同分组对样品差异的解释度,第一主成分(横坐标)解释43.02%的群落差异,第二主成分(纵坐标)解释了20.24%的群落差异,累积解释63.26%,较高程度表征了真菌群落结构的差异性,用方差分析法验证A1-A2-B1-B2-C1-C2组间差异($P<0.001$),说明各组样本间的根际土壤真菌群落结构差异显著。



注:A表示门水平关键物种差异比较;B表示真菌群落PCoA分析。
Note: A represents the comparison of key species differences at the phylum level; B represents the PCoA analysis of the fungal community.

图3 不同样品间真菌群落差异分析

Fig.3 Analysis of fungal community differences between different samples

2.2.3 根际土壤真菌种类丰度分析

基于菌属聚类分析(图4),18个土壤样本共鉴定到396属、541种真菌物种。A1和A2处理样本间的菌群结构相似,柄孢壳菌属[*Podospora*, 22.91%(A1), 22.97%(A2)]和链格孢属[*Alternaria*, 10.53%(A1), 12.97%(A2)]是不同处理组共有的绝对优势菌属,拔节期土壤的菌群结构呈分化状态,表现为相同处理条件下苗期与拔节期的菌群结构差异显著;B1与B2处理的菌群结构差异显著,毛壳菌属(*Chaetomium*, B1, 14.53%)是试验组处理的绝对优势菌属,青霉属

(*Penicillium*, B2, 8.14%)是对照组处理的绝对优势菌属,相同处理条件,成熟期与拔节期的真菌群落结构组成相似;C1处理(毛壳菌属, 25.06%)和C2处理(青霉属, 12.41%)为绝对优势菌属。结果说明,根际真菌群落结构与植株生长过程的养分需求量相互作用,拔节期玉米植株对土壤养分的需求量最高,真菌群落结构与其他时期差异显著;苗期与成熟期内植株生长相对缓慢,土壤养分需求量低于拔节期,菌群结构趋于稳定状态。

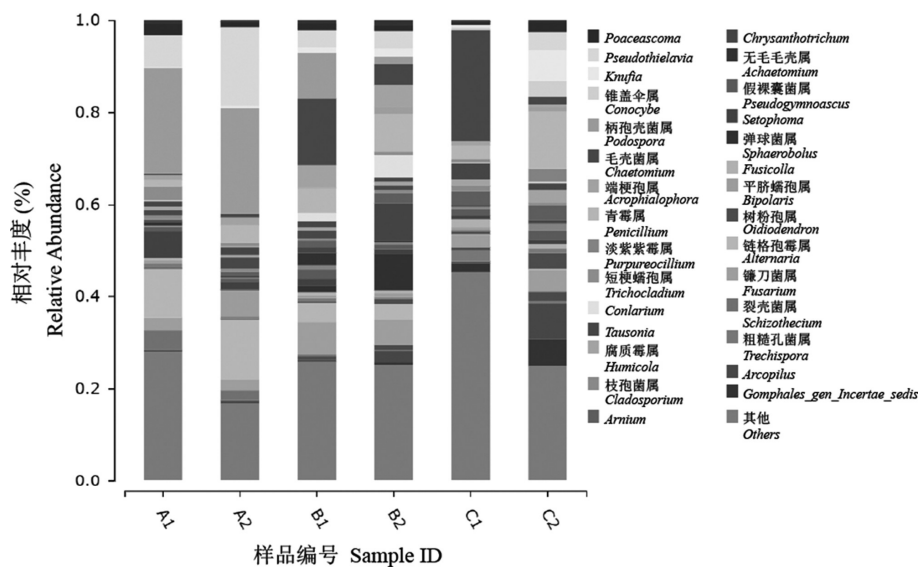


图4 属分类水平不同处理条件真菌群落相对丰度

Fig.4 Relative abundance of fungal communities under different taxonomic levels and treatment conditions

3 结论与讨论

青贮玉米作为反刍类动物日粮主要成分,其生物产量和营养品质等指标直接关系其经济价值,优质青贮玉米粗蛋白含量大于7%,淀粉含量大于28%,酸、中性洗涤纤维含量分别小于22%、45%^[28-29]。本研究通过评价玉米产量、粗蛋白、粗脂肪、干物质、淀粉、酸性洗涤纤维、中性洗涤纤维和矿物质元素等品质指标,证明荧光假单孢杆菌菌剂能够有效提高青贮玉米的生物产量和营养品质,与相关研究表述的施加微生物菌剂可以改变植株根际土壤微生物群落结构、增加优势微生物菌属数量、促进农作物对土壤中养分的吸收、改善农作物生物性状的结论一致^[30-31]。

本研究采用高通量测序技术,分析两个处理、3个时期青贮玉米根际土壤样本的真菌群落结构。结果表明,真菌物种共注释到12个门、396个属,以子囊菌门和担子菌门为绝对优势菌门,且不同时期、不同处理土壤样本的真菌群落结构差异性显著。有研究表明,子囊菌门和担子菌门是全球范围内土壤真菌群落的优势菌门,且子囊菌门是土壤中养分(有机碳和总氮)的主要分解者^[32-33]。本研究发现,拔节期、成熟期的土壤样品与苗期样品间的真菌群落结构呈显著差异($P<0.001$),说明土壤中的养分含量会直接影响真菌群落结构。

青贮玉米根际土壤内的真菌能产生生物活性较高的次级代谢产物,其中毛壳菌属(*Chaetomium*)是试验组处理的绝对优势菌属。有研究表明,毛壳菌属

可以在一定程度控制植物病害,能有效抑制丝核菌属(*Rhizoctonia*)、镰孢菌属(*Fusarium*)、疫霉属(*Phytophthora*)、链格孢属(*Alternaria*)、核盘菌属(*Sclerotinia*)以及炭疽菌属(*Colletotrichum*)等多种常见的植物病原菌生长^[34-35],对玉米茎腐病(禾谷镰孢菌)^[36]、玉米大斑病(大斑凸脐蠕孢)^[37]和玉米纹枯病(立枯丝核菌)^[38]具有主导的生物防治功能。本研究数据说明,镰孢菌属(*Fusarium*)是玉米拔节期和成熟期的主要致病菌[7.137% (B1)、5.244% (B2)、2.776% (C1)、4.681% (C2)],在对照组处理中未发现对镰孢菌属的优势拮抗菌属。青霉属(*Penicillium*)是试验组处理的TOP5优势真菌属[5.136% (B1)、2.956% (C1)],是对照组处理的绝对优势菌属[8.142% (B2), 12.405% (C2)]。青霉属对植物立枯丝核菌等致病真菌的生长有显著抑制作用,同时也是植株腐烂等多种致病性状的污染菌^[39]。

参考文献:

[1] ALLEN M S, COORS J G, ROTH G W. Corn silage[J]. Silage Science and Technology, 2003, 42: 547-608.

[2] DIEPERSLOOT E C, HEINZEN JR C, SAYLOR B A, et al. Effect of cutting height, microbial inoculation, and storage length on fermentation profile and nutrient composition of whole-plant corn silage[J]. Translational Animal Science, 2022, 6(2): txac037.

[3] 吴进东. 添加剂对全株玉米青贮饲料品质的影响[J]. 中国草食动物科学, 2006, 26(6): 49-51.

WU J D. Effect of additives on the quality of whole-plant corn silage [J]. China Herbivore Science, 2006, 26(6): 49-51. (in Chinese)

[4] BAL M A. Effects of hybrid type, stage of maturity, and fermentation length on whole plant corn silage quality[J]. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences, 2006, 30(3): 331-336.

- [5] 周文静,李文娟,郭 涛,等. 品种及收获时间对青贮玉米营养组成的影响[J]. 草业科学, 2022, 39(7): 1419–1428.
- ZHOU W J, LI W J, GUO T, et al. Effects of silage maize varieties and harvest time on silage nutritional composition[J]. *Pratacultural Science*, 2022, 39(7): 1419–1428. (in Chinese)
- [6] CHEN Y, ZHENG H, WANG W, et al. Cutting time & height improve carbon and energy use efficiency of the forage – food dual-purpose ratoon rice cropping[J]. *Heliyon*, 2023, 9(3).
- [7] OMOTAYO O P, BABALOLA O O. Resident rhizosphere microbiome's ecological dynamics and conservation: towards achieving the envisioned sustainable development goals, a review[J]. *International Soil and Water Conservation Research*, 2021, 9(1): 127–142.
- [8] JIAO S, LI Q, ZAI X, et al. Complexity of bacterial communities within the rhizospheres of legumes drives phenanthrene degradation[J]. *Geoderma*, 2019, 353: 1–10.
- [9] EHRENFELD J G. Effects of exotic plant invasions on soil nutrient cycling processes[J]. *Ecosystems*, 2003, 6(6): 503–523.
- [10] EWALD M, SKOWRONEK S, AERTS R, et al. Assessing the impact of an invasive bryophyte on plant species richness using high resolution imaging spectroscopy[J]. *Ecological Indicators*, 2020, 110: 105882.
- [11] ZHANG B, ZHANG J, LIU Y, et al. Co-occurrence patterns of soybean rhizosphere microbiome at a continental scale[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 118: 178–186.
- [12] REINHOLD-HUREK B, BÜNGER W, BURBANO C S, et al. Roots shaping their microbiome: global hotspots for microbial activity[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2015, 53: 403–424.
- [13] LIU C, LIN H, LI B, et al. Responses of microbial communities and metabolic activities in the rhizosphere during phytoremediation of Cd-contaminated soil[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 202: 110958.
- [14] 朱 丽,王庆莲,唐山远,等. 不同试剂处理对草莓植株生长及根际微生物群落结构的影响[J]. 江苏农业学报, 2023, 39(1): 198–207.
- ZHU L, WANG Q L, TANG S Y, et al. Effects of different reagent treatments on strawberry plant growth and rhizosphere microbial community structure[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2023, 39(1): 198–207. (in Chinese)
- [15] KANG S M, KHAN A L, WAQAS M, et al. Plant growth-promoting rhizobacteria reduce adverse effects of salinity and osmotic stress by regulating phytohormones and antioxidants in *Cucumis sativus* [J]. *Journal of Plant Interactions*, 2014, 9(1): 673–682.
- [16] WELLER D M, RAAIJMAKERS J M, GARDENER B B M S, et al. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2002, 40 (1): 309–348.
- [17] ROSENZWEIG N, TIEDJE J M, QUENSEN J F, et al. Microbial communities associated with potato common scab-suppressive soil determined by pyrosequencing analyses[J]. *Plant Disease*, 2012, 96 (5): 718–725.
- [18] KWAK M J, KONG H G, CHOI K, et al. Rhizosphere microbiome structure alters to enable wilt resistance in tomato[J]. *Nature Biotechnology*, 2018, 36(11): 1100–1109.
- [19] 陈秀青. 毛壳属及其相近属真菌抑制植物病原菌的研究[D]. 哈尔滨:黑龙江大学, 2023.
- [20] 卢伯宇,魏书威,李 姝,等. 祁连山国家级自然保护区大型真菌资源调查[J]. 菌物研究, 2024, 22(2): 142–148.
- LU B Y, WEI S W, LI S, et al. Resource survey of macrofungi in Oilian mountain national mature[J]. *Journal of Fungal Research*, 2024, 22(2): 142–148. (in Chinese)
- [21] 李 娜,李丽艳,葛振宇,等. 一株紫外诱变型荧光假单胞杆菌及其用途[P]. 中国专利: ZL201410386364.8, 2014–11–20.
- [22] 杨丽娟,王玉凤,张翼飞,等. 产酸克雷伯氏菌提高玉米幼苗耐盐碱胁迫的机理[J]. 植物营养与肥料学报, 2021, 27(6): 1044–1054.
- YANG L J, WANG Y F, ZHANG Y F, et al. *Klebsiella oxytoca* improves resistance of maize seedling to saline-alkali stress[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2021, 27(6): 1044–1054. (in Chinese)
- [23] AVERSHINA E, FRISLI T, RUDI K. De novo semi-alignment of 16S rRNA gene sequences for deep phylogenetic characterization of next generation sequencing data[J]. *Microbes and Environments*, 2013, 28(2): 211–216.
- [24] FADROSH D W, MA B, GAJER P, et al. An improved dual-indexing approach for multiplexed 16S rRNA gene sequencing on the Illumina MiSeq platform[J]. *Microbiome*, 2014, 2: 1–7.
- [25] MAGOČ T, SALZBERG S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies[J]. *Bioinformatics*, 2011, 27(21): 2957–2963.
- [26] EDGAR R C. UPARSE: Highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996–998.
- [27] FOUTS D E, SZPAKOWSKI S, PURUSHE J, et al. Next generation sequencing to define prokaryotic and fungal diversity in the bovine rumen[J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e48289.
- [28] 宗 瑾. 不同利用管理方式对草本沼泽湿地土壤微生物群落特征的影响研究[D]. 延吉:延边大学, 2022.
- [29] TEDERSOO L, BAHRAM M, PÖLME S, et al. Global diversity and geography of soil fungi[J]. *Science*, 2014, 346(6213): 1256688.
- [30] 袁 霞. 松嫩草地土壤微生物对植物及草食家畜放牧的响应机制[D]. 长春:东北师范大学, 2015.
- [31] 张文慧,肖依文,梁伟中,等. 内生真菌 *Chaetomium globosum* S108 次生代谢产物分离及黑色素瘤抑制活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2021, 33(11): 1854–1859.
- ZHANG W H, XIAO Y W, LIANG W Z, et al. Isolation of secondary metabolites from endophytic fungus *Chaetomium globosum* S108 and its antimelanoma activity[J]. *Natural Product Research and Development*, 2021, 33(11): 1854–1859. (in Chinese)
- [32] TVEIT M, MOORE M B. Isolates of *Chaetomium* that protect oat from *Hehninthosporium victoriae*[J]. *Phytopathology*, 1954, 44: 686–689.
- [33] 张士龙,贺正华,万正煌,等. 23 份含非洲种质的青贮玉米组合初步评价[J]. 现代农业科技, 2015(22): 48–49, 53.
- ZHANG S L, HE Z H, WAN Z H, et al. Preliminary evaluation of 23 silage maize combinations containing African germplasm[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2015(22): 48–49, 53. (in Chinese)

- [34] CHAER G, FEMANDES M, MYROLD D, et al. Comparative resistance and resilience of soil microbial communities and enzyme activities in adjacent native forest and agricultural soils[J]. *Microbial Ecology*, 2009, 58: 414–424.
- [35] HINSINGER P, HERRMANN L, LESUEUR D, et al. Impact of roots, microorganisms and microfauna on the fate of soil phosphorus in the rhizosphere[J]. *Annual Plant Reviews Volume 48: Phosphorus Metabolism in Plants*, 2015, 48: 375–407.
- [36] 李亚玲, 龙书生, 张宇宏, 等. 玉米对镰刀菌茎腐病抗性的生化反应[J]. *中国农学通报*, 2005(10): 299–302.
- LI Y L, LONG S S, ZHANG Y H, et al. Biochemical reaction of corn resistance to stalk rot caused by *Fusarium graminearum*[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2005(10): 299–302. (in Chinese)
- [37] ZHANG G, WANG F, QIN J, et al. Efficacy assessment of antifungal metabolites from *Chaetomium globosum* No.05, a new biocontrol agent, against *Setosphaeria turcica*[J]. *Biological Control*, 2013, 64(1): 90–98.
- [38] TIRUMALE S, WANI N. Biological control of phytopathogenic fungi using different extracts of *Chaetomium cupreum*[J]. *Biological Control*, 2018, 11(9): 328.
- [39] 梁建根, 施跃峰, 竺利红, 等. 植物病害生物防治的研究现状[J]. *现代农业科技*, 2008(18): 158–159.
- LIANG J G, SHI Y F, ZHU L H, et al. Research status of biological control of plant diseases[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2008(18): 158–159. (in Chinese)

(责任编辑:姜媛媛)

(上接第99页)

- [31] WANG L, GUO S, WANG Y, et al. Poultry biogas slurry can partially substitute for mineral fertilizers in hydroponic lettuce production[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 26: 659–671.
- [32] TERHOEVEN-URSELMANS T, SCHELLER E, RAUBUCH M, et al. CO₂ evolution and N mineralization after biogas slurry application in the field and its yield effects on spring barley[J]. *Applied Soil Ecology*, 2009, 42: 297–302.
- [33] ZHANG H L, LI S X, ZHENG X Q, et al. Effects of biogas slurry combined with chemical fertilizer on soil bacterial and fungal community composition in a paddy field[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 1–13.
- [34] GODDEK S, SCHMAUTZ Z, SCOTT B, et al. The effect of anaerobic and aerobic fish sludge supernatant on hydroponic lettuce[J]. *Agronomy-Basel*, 2016, 6(2): 37–49.
- [35] LIANG F H, XU L, JI L, et al. A new approach for biogas slurry disposal by adopting CO₂-rich biogas slurry as the flower fertilizer of *Spathiphyllum*: Feasibility, cost and environmental pollution potential[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 7: 245–233.
- [36] 宋三多, 刘汉军, 刘轶豪, 等. 沼肥施用对成都平原稻麦轮作土壤及作物养分和重金属含量的影响[J]. *生态科学*, 2018, 37(1): 35–41.
- SONG S D, LIU H J, LIU Y H, et al. Effects of biogas manure application on nutrient and heavy metal content in soil and crop under rice-wheat rotation in Chengdu plain[J]. *Ecological Science*, 2018, 37(1): 35–41. (in Chinese)

(责任编辑:姜媛媛)